9.c.1
18
(2)

Estratto dai " Rendiconti „ del R. Ist. Lomb. di sc. e lett., Serie II, Vol. XXXIV, 1901.

SUI BACTERI ACIDO-PRESAMIGENI DEL LATTE.

Ricerche

del dott. Costantino Gorini

I bacteri del latte vengono comunemente distinti in due classi: 1° *bacteri acidificanti;* 2° *bacteri presamigeni.*

I primi sono rappresentati specialmente dai cosidetti *fermenti lattici;* essi coagulano il latte con reazione acida e sono incapaci di ridisciogliere il coagulo (1). I secondi sono rappresentati specialmente dalle cosidette *tyrothrix* ; essi coagulano il latte con reazione neutra o alcalina e poi ridisciolgono il coagulo, onde son detti anche *bacteri peptonizzanti* o, come preferisco chiamarli, *fermenti caseinici* (2).

Nel 1890 (3) feci conoscere che il *Bacillus prodigiosus,* la cui nota azione coagulante era finallora attribuita a semplice acidificazione, produce anche del presame.

Più tardi, nel 1894 (4), dimostrai che altri tre microrganismi *(bacillus indicus*, *proteus mirabilis* e *ascobacillus citreus)* sono

(1) In questa stessa classe si possono comprendere anche i bacteri coagulanti del tipo *bacillus coli.*

(2) Oltre alle tyrothrix studiate da Duclaux, Conn fece conoscere nel 1892 altre specie di bacteri produttori di presame, i quali pure coagulano il latte con reazione alcalina o neutra (*Centrabl. f. Bakter.*, 1892, XII, p. 223).

(3) *Studi sperimentali sul latte,* Atti dei laboratori scientifici della Direzione di sanità pubblica. Roma, 1890. — *Il fermento coagulante del bacillo prodigioso,* Rivista d'igiene e sanità pubblica, 1893, IV, p. 549. — *Das Prodigiosus-Labferment,* Hygienische Rundschau, 1893, III, p. 381.

(4) *Sopra una nuova classe di bacteri coagulanti del latte.* Giornale della Reale Società italiana d'igiene. 1894, XVI, n. 4.

dotati della proprietà di coagulare il latte contemporaneamente per acidificazione e per presame. Per cui io proponeva che alle due sopraccitate classi di bacteri ne fosse aggiunta una terza costituita da *bacteri acido-presamigeni*, i quali coagulano il latte con reazione acida e poi ridisciolgono (peptonizzano) il coagulo.

" Sembrami, soggiungevo, che ciò abbia un' importanza non solo scientifica ma anche pratica, poichè dalla duplice e contemporanea proprietà di questi bacteri potrebbe ricavarne vantaggio anche l'industria dei formaggi, specialmente in oggi che si tende a fabbricare i latticini mediante culture pure di dati fermenti „.

Nel 1897 (5), in mezzo al dibattersi delle opinioni circa la preminenza da dare ai fermenti lattici piuttosto che ai fermenti caseinici nella maturazione dei formaggi a pasta dura, ritornai sull'argomento " per insistere sull'esistenza di bacteri capaci di attaccare tanto il lattosio quanto la caseina e per dimostrare come la manifestazione di tali funzioni stia in rapporto non soltanto colla qualità dei materiali di nutrizione, ma altresì col grado di temperatura e di accesso d'aria, che sono pur due momenti di capitale importanza nella maturazione del formaggio „.

Mi si fece allora notare che i microrganismi da me studiati non appartenevano alla flora normale del latte, ma dovevano considerarsi piuttosto quali bacteri accidentali del latte.

Per vero dire, già uno dei suaccennati bacteri, l' *ascobacillus citreus*, merita di essere ascritto agli abitatori abituali del latte, perchè io l' ho riscontrato frequentemente a Pavia nel latte di mercato di diversa provenienza. Tuttavia, allo scopo di escludere qualunque incertezza di giudizio fra germi abituali e fortuiti del latte, ho creduto bene di approfittare della cortese ospitalità concessami dall'egregio dottor E. Freudenreich nel suo laboratorio di batteriologia annesso alla Stazione federale agraria di Berna, per continuare le mie ricerche, in questo senso, sui bacteri del latte propriamente detto.

***

Un primo fatto che mi premeva di stabilire era che i cosidetti fermenti lattici, cioè i batteri che coagulano il latte per acidifica-

(5) *Sulla bacteriologia del caseificio*, Bollettino di notizie agrarie del Ministero di agricoltura, Roma, 1897. — *Sur le rôle des bactéries dans la fromagerie*, Annales de micrographie, 1897, IX, p. 433.

zione senza poi ridisciogliere il coagulo, fossero incapaci di produrre del presame, allo scopo di differenziarli nettamente dai bacteri acido-presamigeni.

Già nel precedente lavoro del 1894 aveva dimostrato che i seguenti bacteri: *bacillus acidi lactici* Hüppe, *b. lactis aërogenes* e *b. coli communis* coagulano per semplice acidificazione senza presame.

Ora volli sottomettere alla prova i seguenti bacteri acidificanti:

a) i quattro fermenti lattici α, γ, δ, ε isolati da Freudenreich dal formaggio Emmenthal;

b) un fermento lattico isolato da Freudenreich dal formaggio Limbourg;

c) il *b. acidi lactici* di Leichmann;

d) i bacilli *Guillebau A e C*, e il *bacillus Schafferi*, che sono varietà di *b. coli* studiate da Freudenreich quali causa del rigonfiamento dei formaggi.

Nelle ricerche precedenti io usavo sterilizzare le colture in brodo e in latte mediante riscaldamento a 60-65° C. per una, due ore; questa volta però, avendo a mia disposizione un buon apparecchio filtrante, preferii ricorrere alla filtrazione attraverso candela Chamberland, tanto più che il riscaldamento poteva riuscir dannoso al presame.

Le culture filtrate venivano addizionate, mediante pipette sterilizzate, in varia proporzione a del latte che era stato sterilizzato in autoclave a 115-120° C. per 15-20 minuti.

Le prove furono numerose e ripetute; impiegai culture e in latte e in brodo lattosato, tenute da 10 a 30 giorni sia a 35° C., sia a 20° C. Con nessuna di queste culture, filtrate e addizionate nella proporzione di 1:20, 1:10, 1:5 a latte sterilizzato, ottenni la coagulazione, neppure dopo 30-45 giorni di permanenza a circa 35° C.; invece una cultura filtrata di *b. prodigioso*, impiegata per termine di confronto, coagulò il latte in 48 ore a 35° C., già nella proporzione di 1 : 20.

Queste esperienze attestano che i veri fermenti lattici, al pari delle diverse varietà di *b. coli*, non posseggono proprietà presamigene.

***

Stabilita così una separazione precisa fra bacteri acidificanti e bacteri acido-presamigeni, mi proposi di cercare qualche rappre-

sentante di questi ultimi fra i bacteri appartenenti in modo incontestabile alla flora normale del latte.

Potei infatti accertare che fra i microbi contenuti nel latte raccolto asetticamente all'inizio della mungitura esistono in gran numero bacteri acido-presamigeni. Per vero, in tutti i campioni di latte provenienti da 14 vacche di tre diverse stalle ho rintracciato, costantemente e in maggioranza, dei cocchi liquefacienti che coagulano il latte con reazione acida e poi ridisciolgono il coagulo, conservando sempre reazione acida. Le loro culture in latte, sterilizzate mediante filtrazione attraverso candela Chamberland, coagulano il latte sterilizzato tenuto a 35° C., dando coaguli sterili e di reazione anfotera come il latte sterilizzato stesso.

Non è facile decidere se questi cocchi appartengano a specie diverse, o siano semplici varietà di una medesima specie; in ogni caso a me sembra di poterli raggruppare in quattro o cinque tipi, che descriverò in un prossimo lavoro sulla flora dei dotti galattofori delle mungane.

***

In base a questi nuovi risultati io ritengo sempre più giustificata la mia proposta di creare una classe speciale di bacteri del latte i quali, per la loro proprietà di produrre acido e presame ad un tempo, sono in grado di peptonificare la caseina in ambiente acido.

L'importanza di questo fatto parmi si possa desumere dalla seguente considerazione:

È noto che la maturazione dei formaggi a pasta dura è da alcuni autori attribuita alle tyrothrix (Adametz), da altri invece ai fermenti lattici (Freudenreich). I primi si fondano sulla circostanza che solamente le tyrothrix e non già i fermenti lattici sono capaci di disciogliere e peptonificare la caseina, che è *conditio sine qua non* per la maturanza dei formaggi. I secondi hanno in loro favore il fatto che nei formaggi maturi e in via di maturazione i fermenti lattici si trovano in grande prevalenza, mentre le tyrothrix sono poco o punto rappresentate e, anche quando esse vengano seminate artificialmente nel formaggio, soccombono rapidamente nell'ambiente acido creato dai batteri lattici.

Orbene, se noi supponiamo che nel formaggio prosperino, accanto ai fermenti lattici, anche dei bacteri acido-presamigeni che sono capaci di peptonificare la caseina in reazione acida, non ne verrebbe maggior luce sul processo di maturazione dei formaggi?

Nulla osta ad ammettere che nei formaggi esista questa sorta di bacteri, dal momento che essi si incontrano in grande copia nella flora normale dei dotti galattofori.

Pertanto io mi propongo di proseguire i miei studi sui bacteri acido-presamigeni, nell'intento di definire con precisione quale ufficio essi compiano nella maturazione dei formaggi.

***

Per ora, riassumendo queste nuove ricerche, mi limito a concludere:

1° Che esse confermano e estendono maggiormente i risultati dei miei precedenti lavori relativi all'esistenza (rivelata fin dal 1890) di bacteri produttori ad un tempo di acidità e di presame, i quali si differenziano nettamente tanto dai bacteri semplicemente acidificanti e non peptonificanti, quanto dai bacteri semplicemente presamigeni e peptonificanti;

2° Che esse inoltre, avendo accertata la presenza di bacteri acido-presamigeni non solamente nella flora del latte di mercato (1894), ma altresì nella flora normale dei dotti galattofori della vacca, rendono sempre più verosimile che, come già avevo sospettato nel 1894, la nuova classe di bacteri abbia anche un'importanza pratica nel caseificio.

Ottobre 1901.

Milano, 1902. -- Tipografia Bernardoni di C. Rebeschini e C.